

[成分分析]

3 种沙蚕中脂肪酸分析及 5 种不饱和脂肪酸测定

孙 辉， 于 静， 梁 琨， 安 骛， 尤丽莎*， 王新宏
(上海中医药大学，上海 201203)

摘要：目的 建立气相色谱-串联质谱（GC-MS/MS）法分析疣吻沙蚕 *Tylorrhynchus heterochaetus*、双齿围沙蚕 *Perinereis aibuhitensis* 和日本刺沙蚕 *Neanthes japonica* 中脂肪酸，并采用 GC 法测定 EPA（二十碳五烯酸）、DHA（二十二碳六烯酸）、AA（花生四烯酸）、LNA（亚麻酸）、LA（亚油酸）含量。**方法** 石油醚提取沙蚕中脂肪酸后，氢氧化钾-甲醇溶液将其甲酯化。GC-MS/MS 法分析 14 批样品中主要的脂肪酸成分，NIST 库匹配，并计算相对含量。GC 法测定 5 种不饱和脂肪酸的含量，通过 SPSS16.0 软件进行聚类分析。**结果** 沙蚕中含有 18 种脂肪酸，其中不饱和脂肪酸含量较高。5 种不饱和脂肪酸线性关系均良好（ $r>0.999\ 7$ ），加样回收率（ $n=6$ ）为 94.1% ~99.94%。聚类分析将样品分成两类，可鉴别疣吻沙蚕，但不能区分双齿围沙蚕和日本刺沙蚕。**结论** 该方法稳定可靠，可用于沙蚕的质量评价。

关键词：沙蚕；脂肪酸；GC-MS/MS；GC；聚类分析

中图分类号：R284.1 文献标志码：A 文章编号：1001-1528(2016)06-1298-05
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.06.020

Analysis of aliphatic acids in three kinds of nereid and determination of five unsaturated aliphatic acids

SUN Hui， YU Jing， LIANG Kun， AN Rui， YOU Li-sha*， WANG Xin-hong
(Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS) method for analyzing the aliphatic acids in *Tylorrhynchus heterochaetus*, *Perinereis aibuhitensis* and *Neanthes japonica* and to determine the contents of EPA (eicosapentaenoic acid), DHA (docosahexaenoic acid), AA (arachidonic acid), LNA (linolenic acid) and LA (linoleic acid) by GC. **METHODS** After the aliphatic acids in nereid were extracted with petroleum ether, the methyl esterification was performed by potassium hydroxide-methanol solution. The main aliphatic acids in fourteen batches of samples were analyzed by GC-MS/MS and matched with NIST library, whose relative contents were calculated. The contents of five unsaturated aliphatic acids were determined by GC. Cluster analysis was made by SPSS16.0 software. **RESULTS** Nereid contained eighteen kinds of aliphatic acids, and the contents of unsaturated aliphatic acids were relatively high. Five unsaturated aliphatic acids showed good linear relationships ($r>0.999\ 7$), whose average recoveries ($n=6$) were 94.10% -99.94%. Cluster analysis divided the samples into two groups, which could identify *Tylorrhynchus heterochaetus*, but failed to distinguish *Perinereis aibuhitensis* from *Neanthes japonica*. **CONCLUSION** This method is stable and reliable, which can be used for the quality control of nereid.

KEY WORDS: nereid; aliphatic acids; GC-MS/MS; GC; cluster analysis

收稿日期：2015-07-24
基金项目：国家“863”计划项目（2013AA093002）；上海中医药大学预算内项目（2014YSN10）
作者简介：孙 辉（1991—），女，硕士，研究方向为药物分析与体内过程。Tel：(021) 51322450，E-mail：496148710@qq.com
* 通信作者：尤丽莎（1977—），女，博士，副教授，研究方向为中药活性成分。Tel：(021) 51322183，E-mail：youlisha@126.com

海洋动物沙蚕隶属于环节动物门多毛纲沙蚕目沙蚕科,是沙蚕科动物的统称,包括 1 600 多个属,10 000 多个种^[1],其既可药用又可食用,还可作为饲料,其经济、营养和生态价值十分显著^[2-3]。目前,沙蚕科动物中产量最大和用途最广的 3 个品种分别是双齿围沙蚕 *Perinereis aibuhitensis*、日本刺沙蚕 *Neanthes japonica* 和疣吻沙蚕 *Tylorhynchus heterochaetus*,其中我国辽宁、山东和河北的沿海地区以双齿围沙蚕和日本刺沙蚕居多,江苏、福建和浙江则以双齿围沙蚕为主,而疣吻沙蚕(俗称禾虫)主要分布在广东、福建和越南等地区^[4-5]。

沙蚕含有多种脂肪酸成分,其中不饱和脂肪酸具有较强的生理作用^[6-7]。本实验借鉴海洋产物鱼油中不饱和脂肪酸的测定方法,通过气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)法对这 3 个品种沙蚕中的主要脂肪酸成分进行鉴定。同时,建立气相色谱(GC)法对含有量较高,并且在改善心脑血管疾病方面具有显著药理活性的 5 种不饱和脂肪酸成分 EPA(二十碳五烯酸)、DHA(二十二碳六烯酸)、AA(花生四烯酸)、LNA(亚麻酸)、LA(亚油酸)进行定量分析,希冀对沙蚕的质量评价提供有益的参考。

1 材料

1.1 仪器 Agilent Technologies 7890A GC system、Agilent Technologies 7000 GC/MS Triple Quad、Agilent 6890 N 气相色谱仪、Agilent ChemStation for GC system 工作站、氢火焰离子化检测器(美国 Agilent Technologies 公司)。

LD24 型高速中药粉碎机(浙江省温岭市大海药材器械厂);YELASB-1100 型水浴锅(上海爱朗仪器有限公司);BT125D 型电子天平(德国 Sartoris 公司);SK5200H 型超声清洗器(上海科导超声仪器有限公司);DHG-9053A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海恒科技有限公司)。

1.2 试剂、对照品与样品

1.2.1 试剂 石油醚(60~90℃)、甲醇、盐酸、正己烷、氢氧化钾、氯化钠均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2.2 对照品 顺、顺-9,12-十八碳二烯酸/亚油酸(LA)甲酯、全顺式-9,12、15 十八碳三烯酸/亚麻酸(LNA)甲酯、全顺式-5,8,11,14-二十碳四烯酸/花生四烯酸(AA)甲酯、全顺式-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸(EPA)甲酯、

全顺式-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸(DHA)甲酯(含有量均≥99.0%,美国 NU-CHEKPREP 公司);十三酸甲酯(含有量≥99.0%,美国 AccuStandard 公司)。

1.2.3 样品 收集不同产地和品种(双齿围沙蚕、日本刺沙蚕和疣吻沙蚕)的沙蚕干品,共 14 批,具体信息见表 1。

表 1 样品信息

Tab. 1 Information of samples

编号	品种	产地	编号	品种	产地
1	疣吻沙蚕	福建厦门	8	双齿围沙蚕	山东青岛
2	疣吻沙蚕	广东白蕉村	9	双齿围沙蚕	浙江宁波
3	疣吻沙蚕	广东神湾	10	双齿围沙蚕	广东惠州
4	疣吻沙蚕	广东乾务	11	日本刺沙蚕	山东威海
5	疣吻沙蚕	广东白藤头	12	日本刺沙蚕	浙江宁波
6	双齿围沙蚕	江苏连云港	13	日本刺沙蚕	辽宁大连
7	双齿围沙蚕	河北秦皇岛	14	日本刺沙蚕	广东湛江

2 方法与结果

2.1 GC-MS/MS 法定性分析脂肪酸成分

2.1.1 分析条件

2.1.1.1 GC HP-88 毛细管柱(100 m×250 μm×0.25 μm),程序升温(初始温度 130℃,保持 1 min,以 5℃/min 速率升至 160℃,保持 20 min,再以 3℃/min 速率升至 240℃,保持 17 min);载气 He,体积流量 2.25 mL/min;分流比 10:1;进样量 1 μL。

2.1.1.2 MS EI 离子源;电子轰击能量 70 eV;离子源温度 280℃;进样口温度 250℃;质子扫描范围 m/z 33~600。质谱标准库采用 NIST 谱库。

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取沙蚕样品粉末(过 60 目筛)适量,加入 10 倍石油醚,浸泡 10~12 h,超声萃取 2 次(40 kHz、30℃),每次 1 h,溶液过滤,20 mL 石油醚冲洗滤渣,过滤,滤液合并,旋转蒸发仪减压蒸馏,回收石油醚,得到沙蚕脂肪油,-20℃保存备用。

精密称取脂肪油样品适量,置于具塞圆底烧瓶中,加 0.5 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液 5 mL,振荡混匀,于 60℃水浴中皂化 15 min,冷却后加入 25% 盐酸溶液 10 mL,于 60℃水浴中放置 15 min,冷却,精密加入正己烷 5 mL,振摇,再加入 5 mL 饱和氯化钠溶液,静置分层,取上清液,无水硫酸钠脱水,6 000 r/min 离心 5 min,取上清液。精密加入正己烷 5 mL,振摇,再加入 5 mL 饱和氯化钠溶液,静置分层,取上清液,合并上清液,作为沙蚕甲酯化试液,备用。

2.1.3 样品测定 按确定的色谱和质谱条件，测定3个不同品种沙蚕中脂肪酸甲酯的总离子流色谱图，见图1。通过NIST库检索匹配，初步鉴定出多种脂肪酸成分，峰面积归一化法计算各成分相对含量，见表2。而且，不同品种沙蚕中含有18种相同脂肪酸，其相对含量见表3。

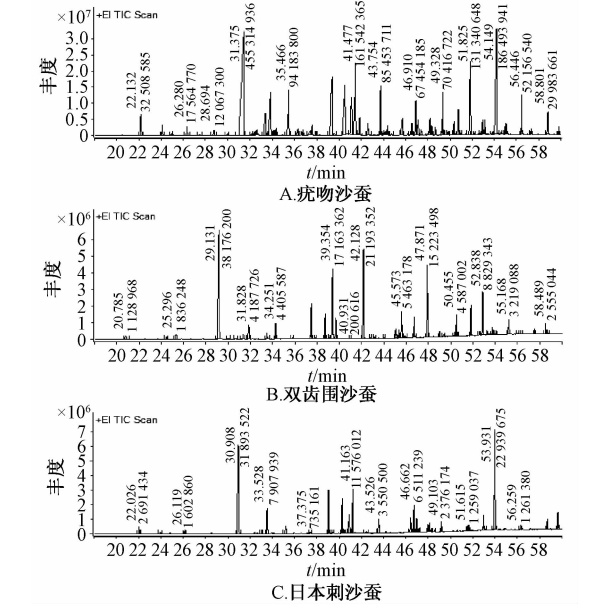


图1 GC-MS/MS 总离子流色谱图
Fig. 1 GC-MS/MS total ion current chromatograms

表2 脂肪酸分析结果 Tab. 2 Analysis results of aliphatic acids			
样品编号	化合物/种	脂肪酸/种	脂肪酸相对含量/%
1(疣吻沙蚕)	68	36	87.85
8(双齿围沙蚕)	55	24	86.33
11(日本刺沙蚕)	34	23	94.75

2.2 GC法测定5种不饱和脂肪酸的含有量

2.2.1 色谱条件 HP-INNO Wax Polyethylene Glycol 毛细管柱 (29.9 m×530 μm×1.00 μm)；程序升温 (初始温度 170℃，保持 3 min，以 3.5℃/min 速率升至 205℃，以 35℃/min 速率升至 230℃)；检测器温度 280℃；载气为氮气；FID 检测器；分流比 2:1；进样量 1.0 μL。

2.2.2 对照品溶液的制备 分别精密称取 LNA 甲酯、AA 甲酯、EPA 甲酯、DHA 甲酯、LA 甲酯对照品适量，正己烷定容，分别制成 59.26、28.16、119.49、115.52 和 138.53 mg/mL 溶液，作为对照品贮备液，置于 -20℃ 保存，备用。

2.2.3 内标溶液的制备 精密称取十三酸甲酯，正己烷溶解，制成 25.00 mg/mL 内标溶液，置于

-20℃ 保存，备用。

表3 脂肪酸相对含有量 (%) Tab. 3 Relative contents of aliphatic acids (%)			
脂肪酸	样品 1 (疣吻沙蚕)	样品 8 (双齿围沙蚕)	样品 11 (日本刺沙蚕)
十四烷酸	1.38	0.62	1.73
十五烷酸	0.76	0.56	1.03
十六烷酸	19.27	20.92	20.53
14-甲基十六烷酸	1.98	0.15	0.94
顺-9-十六碳烯酸	3.50	2.29	5.09
十七烷酸	3.99	0.99	1.51
顺-10-十七碳烯酸	0.61	0.27	0.47
十八烷酸	7.42	4.86	7.88
顺-6-十八碳烯酸	4.28	3.37	6.08
顺-9-十八碳烯酸	0.11	2.61	3.18
LA	3.62	11.61	2.29
LNA	0.65	1.18	2.26
顺-11-二十烯酸	2.85	1.08	4.19
顺,顺-11,14-二十碳二烯酸	2.98	8.34	1.53
AA	5.56	2.51	0.81
EPA	7.89	4.84	16.51
全顺式-7,10,13-二十碳三烯酸	0.09	0.66	3.07
DHA	0.47	1.40	2.95

2.2.4 供试品溶液的制备 按“2.1.2”项下方法，制备各沙蚕脂肪油的甲酯化溶液。精密吸取 8 mL，置于 10 mL 量瓶中，精密加入 1 mL 内标溶液，正己烷定容至刻度，摇匀，备用。

2.2.5 方法学考察

2.2.5.1 色谱分离条件的选择 在“2.2.1”项色谱条件下，各成分之间达到完全分离，见图2。

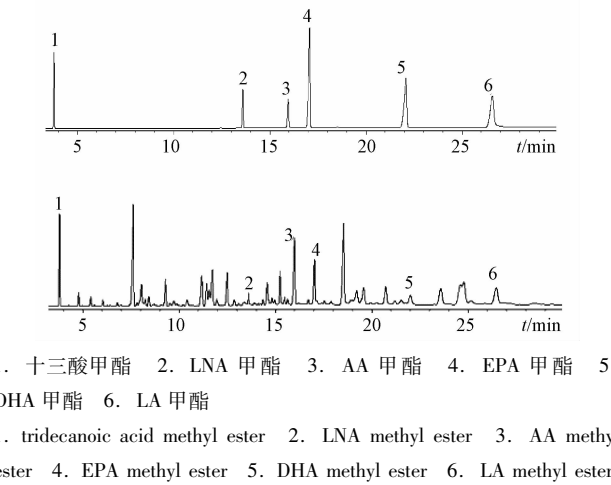


图2 GC 色谱图
Fig. 2 GC chromatograms

2.2.5.2 线性关系考察 精密吸取 LNA 甲酯溶液 2.5 mL、AA 甲酯溶液 5 mL、EPA 甲酯溶液 5 mL、

DHA 甲酯溶液 5 mL、LA 甲酯溶液 5 mL，置于 25 mL 量瓶中，正己烷定容至刻度，摇匀，作为混合对照品贮备液。再分别精密量取 0.1、0.25、0.5、1、2、4、8 mL，置于 10 mL 量瓶中，精密加入 1 mL 内标溶液，正己烷定容，制成系列质量浓度混合对照品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样分析，记录色谱峰面积。以各对照品与内标物峰面积之比（ y ）对各对照品和内标物质量浓度之比（ x ）进行回归分析，结果见表 4。

表 4 5 种不饱和脂肪酸甲酯的线性关系
Tab. 4 Linear relationships of five unsaturated aliphatic acid methyl esters

脂肪酸甲酯	回归方程	r	线性范围/ ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
LNA 甲酯	$y = 1.054 5x - 0.012 0$	0.999 8	0.059 ~ 4.741
AA 甲酯	$y = 1.097 5x - 0.036 1$	0.999 8	0.056 ~ 4.506
EPA 甲酯	$y = 1.232 5x - 0.168 2$	0.999 8	0.239 ~ 19.118
DHA 甲酯	$y = 1.035 0x - 0.158 1$	0.999 7	0.231 ~ 18.482
LA 甲酯	$y = 0.903 6x - 0.234 6$	0.999 7	0.277 ~ 22.165

2.2.5.3 精密度试验 精密量取混合对照品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样 1 μL ，连续 6 次，测得 LNA 甲酯、AA 甲酯、EPA 甲酯、DHA 甲酯、LA 甲酯峰面积 RSD 分别为 1.8%、2.6%、2.3%、2.9%、2.8%，表明仪器精密度良好。

2.2.5.4 重复性试验 精密称取同一批样品（编号 4），按“2.2.4”项下方法平行制备 6 份供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样 1 μL ，测得 LNA 甲酯、AA 甲酯、EPA 甲酯、DHA 甲酯、LA 甲酯含有量 RSD 分别为 1.9%、1.8%、1.9%、2.8%、1.3%，表明该方法重复性良好。

2.2.5.5 稳定性试验 取同一供试品溶液（编号 4），于 0、2、4、6、8、10、12 h 在“2.2.1”项色谱条件下进样 1 μL ，测得 LNA 甲酯、AA 甲酯、EPA 甲酯、DHA 甲酯、LA 甲酯峰面积 RSD 分别为 1.8%、1.6%、1.8%、1.8%、2.1%，表明溶液在 12 h 内稳定性良好。

2.2.5.6 加样回收率试验 精密称取含有量已知的脂肪油样品（编号 4）0.5 g，共 6 份，加入混合对照品溶液 1 mL（每 1 mL 含 LNA 甲酯 1.823 mg、AA 甲酯 7.567 mg、EPA 甲酯 6.462 mg、DHA 甲酯 2.342 mg、LA 甲酯 5.708 mg），按“2.2.4”项下方法处理，在“2.2.1”项色谱条件下进样 1 μL ，计算 5 种脂肪酸的加样回收率（ $n=6$ ）和 RSD 值。结果，平均回收率为 94.1% ~ 99.94%，RSD 值均小于 3.0%。

2.2.6 样品含有量测定 取沙蚕干品，按“2.2.4”项下方法制备供试品溶液，在“2.2.1”项色谱条件下进样 1 μL ，内标法计算 LNA 甲酯、AA 甲酯、EPA 甲酯、DHA 甲酯和 LA 甲酯的含有量，再按照式（1）换算成相应酸的含有量。结果见表 5。

脂肪酸含有量 = 脂肪酸甲酯含有量 $\times$ 脂肪酸分子量 / 脂肪酸甲酯分子量 (1)

表 5 含有量测定结果 (mg/g , $\bar{x} \pm s$, $n=3$)
Tab. 5 Results of content determination (mg/g , $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

编号	LNA	AA	EPA	DHA	LA
1	0.57 $\pm$ 0.02	2.40 $\pm$ 0.04	7.18 $\pm$ 0.06	0.38 $\pm$ 0.03	1.95 $\pm$ 0.03
2	0.68 $\pm$ 0.01	1.76 $\pm$ 0.01	6.57 $\pm$ 0.08	0.50 $\pm$ 0.02	1.69 $\pm$ 0.02
3	1.35 $\pm$ 0.04	4.72 $\pm$ 0.03	6.92 $\pm$ 0.06	1.77 $\pm$ 0.02	2.68 $\pm$ 0.04
4	0.54 $\pm$ 0.01	3.46 $\pm$ 0.02	6.07 $\pm$ 0.04	1.50 $\pm$ 0.04	2.38 $\pm$ 0.03
5	0.73 $\pm$ 0.02	4.81 $\pm$ 0.05	8.75 $\pm$ 0.08	3.03 $\pm$ 0.70	3.93 $\pm$ 0.03
6	0.43 $\pm$ 0.02	1.80 $\pm$ 0.03	1.54 $\pm$ 0.03	0.56 $\pm$ 0.01	1.35 $\pm$ 0.02
7	0.28 $\pm$ 0.01	1.43 $\pm$ 0.04	1.98 $\pm$ 0.04	0.79 $\pm$ 0.02	1.65 $\pm$ 0.04
8	0.53 $\pm$ 0.03	1.42 $\pm$ 0.03	1.84 $\pm$ 0.05	0.75 $\pm$ 0.03	2.01 $\pm$ 0.02
9	0.32 $\pm$ 0.02	0.63 $\pm$ 0.04	1.38 $\pm$ 0.03	0.67 $\pm$ 0.02	1.31 $\pm$ 0.02
10	0.14 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.01	0.77 $\pm$ 0.01	0.39 $\pm$ 0.01	1.12 $\pm$ 0.03
11	0.78 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.03	1.98 $\pm$ 0.07	0.43 $\pm$ 0.02	0.58 $\pm$ 0.05
12	0.40 $\pm$ 0.04	0.36 $\pm$ 0.01	2.80 $\pm$ 0.30	1.30 $\pm$ 0.02	0.57 $\pm$ 0.04
13	0.37 $\pm$ 0.04	0.20 $\pm$ 0.02	2.67 $\pm$ 0.02	0.56 $\pm$ 0.02	0.51 $\pm$ 0.04
14	0.26 $\pm$ 0.02	0.50 $\pm$ 0.01	4.19 $\pm$ 0.06	1.36 $\pm$ 0.03	0.78 $\pm$ 0.02

2.2.7 聚类分析 系统聚类是把样品或变量按照相似性进行归类的方法。本实验采用 SPSS16.0 软件中的聚类分析程序，对 3 个不同品种 14 批样品进行聚类分组，采用欧氏距离测量，每两个样本间用 Average linkage 法连结，进行系统聚类分析，绘出树状图，见图 3。由图可知，14 批沙蚕样品以脂肪酸含有量为聚类变量，样品间距离小于 15 时聚为 1 类，可聚成 2 个大类。其中，样品 1 ~ 5 聚为一类，其他 9 个样品聚为一类，但两类脂肪酸含有量差异明显，由于 1 ~ 5 均为疣吻沙蚕，因此聚类结果可将其区分开，体现了沙蚕品种的差异性，但不能明显区分双齿围沙蚕和日本刺沙蚕。

3 讨论

本实验采用内标法测定沙蚕中 5 种不饱和脂肪酸的含有量，由于其含羧基，极性较大，沸点较高，故在分析前先进行甲酯衍生化，以降低沸点和极性，提高分离的有效性，而且选用 0.5 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液甲酯化时，方法简便，甲酯化完全。由 GC-MS/MS 分析结果可知，沙蚕所含脂肪酸种类较多，从十四碳酸至二十四碳酸之间均可检测到。经查阅资料可知，测定脂肪酸甲酯的内标一

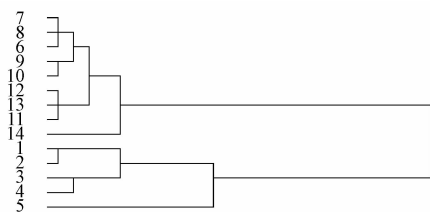


图 3 聚类分析树状图

Fig. 3 Dendrogram of cluster analysis

般选择奇数碳原子^[8-9]，故选择十一、十三酸甲酯进行预实验，发现后者不仅可与沙蚕各脂肪酸峰完全分开，而且出峰时间适中。

通过 GC-MS/MS 法分析沙蚕脂肪酸成分时发现，沙蚕中含有多种脂肪酸，而且多不饱和脂肪酸约占总量的三分之一。其对人体有重要的生理功能，在体内的平衡对稳定细胞膜功能、调控基因表达、维持细胞因子和脂蛋白平衡、抗心血管病、促进生长发育等方面起着重要作用^[10-11]。其中，DHA 被称作“脑黄金”，是大脑和视网膜的重要构成成分，对胎儿、婴幼儿智力和视力发育至关重要，并对人体心血管、神经、抗炎免疫系统等也有着理想的功效^[12]；EPA 被称为“血管清道夫”，具有防止脂肪在血管壁的沉积，预防动脉粥样硬化的形成和发展，预防脑血栓、脑溢血、高血压等心血管疾病作用^[13]；AA 作为各种细胞信号转导途径中不可忽视的第二信使，在细胞膜多种受体刺激后产生并发挥广泛的细胞内生物作用，是人体前列腺素合成的重要前体物质，具有重要的生理、药理作用^[14]；LNA 是构成人体组织细胞的主要成分，其缺乏是导致老年痴呆、癌症、心脑血管疾病、高血压、高脂血症和糖尿病等疾病的重要诱因；缺乏 LA，则会使动物发育不良，导致皮肤和肾损伤等^[15]。因此，EPA、DHA、AA、LA 和 LNA5 种脂肪酸对人体的健康非常重要，而分析也发现沙蚕中其含有量均较高。

然后，通过 GC 法同时测定以上 5 种不饱和脂肪酸的含有量，可知疣吻沙蚕中 EPA、LA 和 AA 的含有量均明显高于其他两类沙蚕。进一步以脂肪酸的含有量为指标进行聚类分析，从聚类树状图可

以直观地看出，疣吻沙蚕与其他两类沙蚕（双齿围沙蚕和日本刺沙蚕）在聚类距离上相距较远。因此，聚类分析能鉴别出疣吻沙蚕。

这些含有量高、种类丰富的脂肪酸显示，沙蚕是一种营养价值高的海洋动物，其中高含有量的不饱和脂肪酸在一定程度上表明了其具有潜在的减少血栓生成等改善心脑血管疾病的药理活性，在开发医疗保健产品方面具有非常大的潜力。

参考文献：

[1] 孙瑞平, 杨德渐. 中国动物志[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 6.

[2] 吴宝铃, 孙瑞平. 中国近海沙蚕科研究[M]. 北京: 海洋出版社, 1981.

[3] 张金鼎. 海洋药物与效方[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1998.

[4] 管华诗, 王曙光. 中华海洋本草: 第 3 卷[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009.

[5] 邓家刚. 广西海洋药物[M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2008.

[6] 刘向辉, 戈 峰, 潘卫东. 沙蚕组织内几种营养成分的分析[J]. 中国海洋药物, 2002, 21(6): 35-37, 41.

[7] 纪丽丽, 黄翔鸽, 李 活, 等. 南美白对虾饲料中沙蚕的营养成分分析[J]. 氨基酸和生物资源, 2002, 30(4): 63-65, 68.

[8] 古 锐, 张 艺, 赖先荣, 等. 气相色谱法测定心迪软胶囊中亚油酸的含量[J]. 中成药, 2007, 29(1): 155-157.

[9] 卢淑君, 杨燕云, 许 亮, 等. 气相色谱法测定牛蒡子脂肪油中 3 种脂肪酸含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 56-60.

[10] 吴正平. 金花葵籽不饱和脂肪酸对实验性高脂血症大鼠血脂和肝功能的影响[J]. 中成药, 2011, 33(7): 1246-1248.

[11] 马立红, 王晓梅. 多不饱和脂肪酸药理作用研究[J]. 吉林中医药, 2006, 26(12): 69-70.

[12] 曹万新, 孟 橘, 田玉霞. DHA 的生理功能及应用研究进展[J]. 中国油脂, 2011, 36(3): 1-4.

[13] 曾晓雄, 罗泽民. DHA 和 EPA 的研究现状与趋势[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(1): 65-69.

[14] 施东魁, 胡春梅. 花生四烯酸的主要作用及提取方法[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(11): 1009-1011.

[15] 李加兴, 吴 越, 陈 选, 等. 多烯酸植物油及其保健功效研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(21): 350-354.